

3,5-ジエンおよび3 -ヒドロキシ-5-エンステロイド類の合成とそれらの生物学的活性に関する研究

著者	永井 義郎
号	243
発行年	1969
URL	http://hdl.handle.net/10097/23489

氏 名・(本籍)	が い し ろう 永 井 義 郎
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 第 2 4 3 号
学位授与年月日	昭和 4 4 年 5 月 2 1 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
最 終 学 歴	昭和 3 0 年 3 月 東北大学理学部化学科卒業
学 位 論 文 題 目	3, 5 - ジエンおよび 3 β - ヒドロキシ - 5 - エンステロイド類の合成とそれらの生物学的 活性に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中 西 香 爾 教 授 伊 東 徹 教 授 北 原 喜 男

論 文 目 次

序 論

- 第 1 章 *Aspergillus terreus* による # おにどころ # 中のサポニンの加水分解
- 第 2 章 *Dioscorea tokoro* M. 中のジオスゲニンの赤外吸収スペクトルによる定量
- 第 3 章 17 α -アシルオキシ - 3, 5 - プレグナジエン - 20 - オンおよびその誘導体の合成
- 第 4 章 17 β -アミノステロイドの合成とその抗菌作用
- 第 5 章 アミノステロイドの抗生物質的活性, 抗菌スペクトルおよび活性と構造相関
- 第 6 章 17 β -アミノステロイドの N - 置換体の合成とその抗菌作用および抗炎症作用
- 第 7 章 20 α -および β -アミノ - 3, 5 - プレグナジエン誘導体および 16 ϵ -アミノ - 3, 5 -
アンドロスタジエンの合成とその抗菌作用および抗炎症作用

結 語

論文 内 容 要 旨

序 論

ステロイドはその化学構造上の微細な変化が生理作用に大きな影響をもたらすものであり、化学構造的に細分類すると多くの同族体にわけられる。そして活性のあるものについてみると基本的には、4-エン-3-オンないし3-ヒドロキシのA環の部分構造を有しており、D環の側鎖の相異が主としてその生理作用を左右していると考ええる。

医薬的に有用なステロイドを開発するに当たり、ステロイドの化学構造と生物学的活性の関係を検討しながら、新規化合物の合成を研究し、特に3,5-ジエン、5-エンおよび5-エン-3 β -オールの部分構造を有する各種の新誘導体の合成法を確立し、あわせてこれら化合物のA・B環の化学構造、およびD環の側鎖と生物学的活性との関係を明らかにした。

第1章 *Aspergillus terreus* による“おにどころ”中のサポニンの加水分解

ステロイド原料の国産化を目的として本邦産やまのいも科植物“おにどころ”からのジオスゲニンの製造法を検討した。ステロイドサポニンは現在ステロイドホルモンの原料として工業的に利用されており、このサポニンからサボゲニン、例えばジオスゲニンを得るには鉍酸による加水分解が用いられているが、この方法は副反応などの欠点をもっている。そこで微生物の生産する適応酵素を利用して固体培養法（糞法）を検討した。*Penicillium* 属および *Aspergillus* 属の11菌株を用いて“おにどころ”中のサポニンの加水分解を調べた結果、*Aspergillus terreus* D₄が最もよく、鉍酸加水分解（収率約80%）に比較して95%でジオスゲニンが得られた。また同様の固体培養法を2回くり返して行なうと含有サポニンの90%をジオスゲニンとして得ることが出来た。

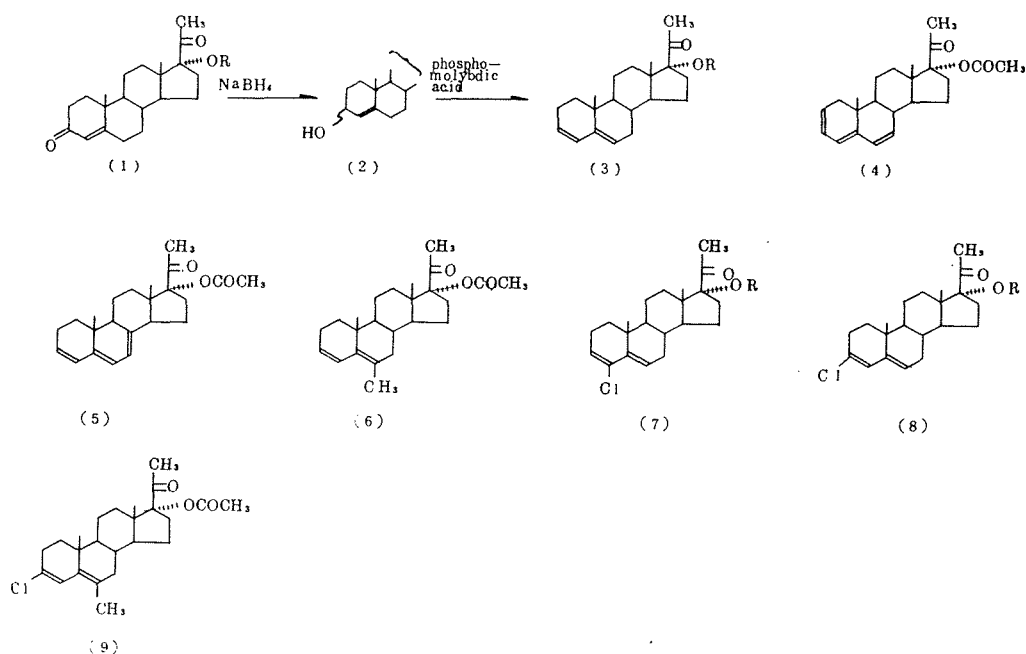
第2章 *Dioscorea tokoro* M. 中のジオスゲニンの赤外吸収スペクトルによる定量

“おにどころ”（*Dioscorea tokoro* M.）の根茎を加水分解して得られる粗サボゲニンは主成分がジオスゲニンで他に若干量のトコロゲニンその他の不純物が含まれている。この粗サボゲニン中のジオスゲニンの定量を赤外吸収を用いて検討した。ジオスゲニンおよびトコロゲニンをクロロホルム溶液で赤外吸収を測定し、ベースライン、検量線、不純物の影響、バックグラウンドおよびトコロゲニンの影響などについて検討した結果、978 cm⁻¹でジオスゲニンおよびトコロゲニンが、960 cm⁻¹でジオスゲニンがそれぞれ定量出来ることを確認した。すなわちジオスゲニンのクロロホルム溶液として、5-30 mg/mlの範囲でトコロゲニンがジオスゲニンの2/3以下の場合不純物の影響など殆んどなく、ジオスゲニンおよびトコロゲニンが定量可能である。

第3章 17 α -アシルオキシ-3, 5-プレグナジエン-20-オンおよびその誘導体の合成

近年強力な経口黄体ホルモン様作用を有するステロイドが多数開発されている。これら化合物は殆んど、4-エン-3-オンないし4,6-ジエン-3-オンなどの共役不飽和ケトンをも有している。

しかしプレグナン系ステロイド合成の研究中、これら共役不飽和ケトンをも有しない17 α -アシルオキシ-3,5-プレグナジエン-20-オン(3)が強い経口黄体ホルモン作用を示すことを発見した。そこでジェンステロイドと活性の関係を調べるため合成を検討し(3)およびその誘導体6種(4,5,6,7,8,9)の合成法を確立した。(1)を水素化ホウ素ナトリウムを用いて、3位のケトンのみを選択還元し、得られた4-エン-3-オール体(2)をリンモリブデン酸にて脱水し(3)を得た。(6)および(7)も同様の反応経路でそれぞれ対応する原料から誘導した。(4)および(5)は(1)の6 α -デヒドロ体の選択還元生成体である4,6-ジエン-3-オール体の脱水により1:1の生成比で得られた。また(8)および(9)は、(1)および(1)の6 α -メチル体をそれぞれ塩化アセチルと反応して合成した。リンモリブデン酸を用いる脱水反応は、特に6位の置換基に影響され、置換基が電気陰性度の強い基の時は反応は困難である。

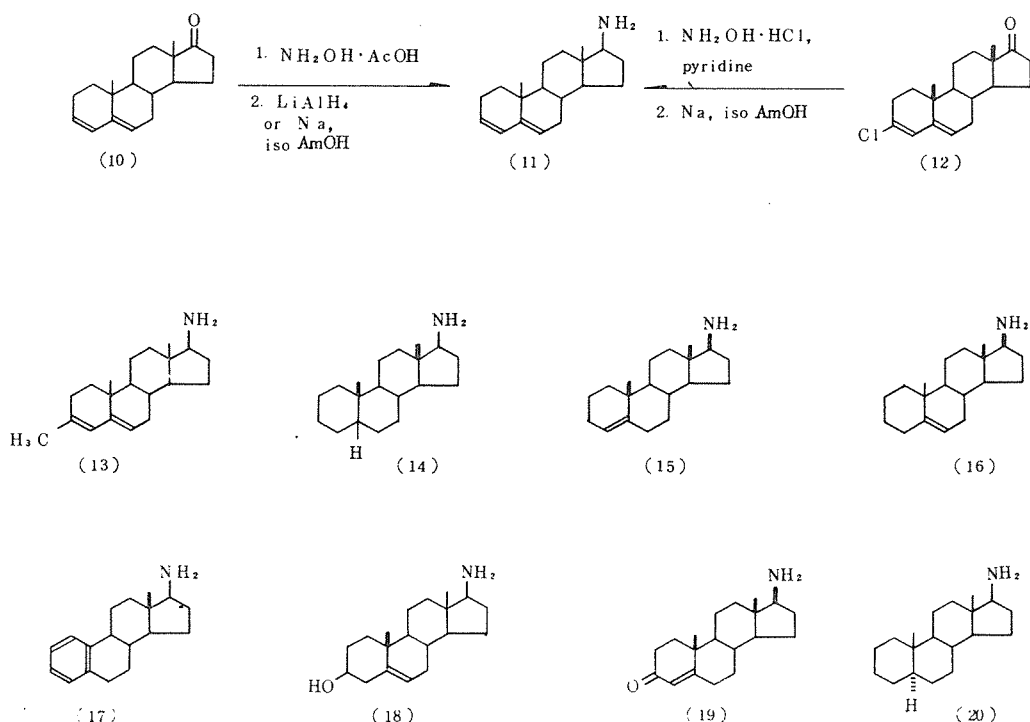


またこれら化合物の活性を Clauberg 変法でみると, (3)が最も強く, 活性と置換基との関係は, 4-エン-3-オン型の(1)の場合と逆で, いずれの置換基の効果も不活化の傾向であることがわかった。

第4章 17 β -アミノステロイドの合成とその抗菌作用

合成した新規化合物 17 β -アミノ-3,5-アンドロスタジエン(11)がトリコヒートン アステロイデスおよびペニシリウム ナトリウムに対し強い抗菌作用を示すことを発見した。そこで(11)に関連した新規化合物(13)-(17) および既知化合物(18)-(20)を合成し A B環の化学構造と抗菌活性との関係を調べた。

(11)は3,5-アンドロスタジエン-17-オン(10)をオキシム化しついで還元して得た。またアンドロステンジオンから得られる3-クロル-3,5-アンドロスタジエン-17-オン(12)をオキシム化しこれを還元しても得られた。また(13)-(17)はテストステロンまたはデヒドロエピアンドロステロンから誘導してそれぞれ対応するケトキシムとしこれを還元して得た。これら17位のアミノ基の立体配置は, ケトキシムの還元生成物が単一物質であり, 亜硝酸との反応で17 β -オール体を与えること, および既知物質である17 β -アミノ体(18) および(20)の製造法との関連から17 β 位であると推定した。



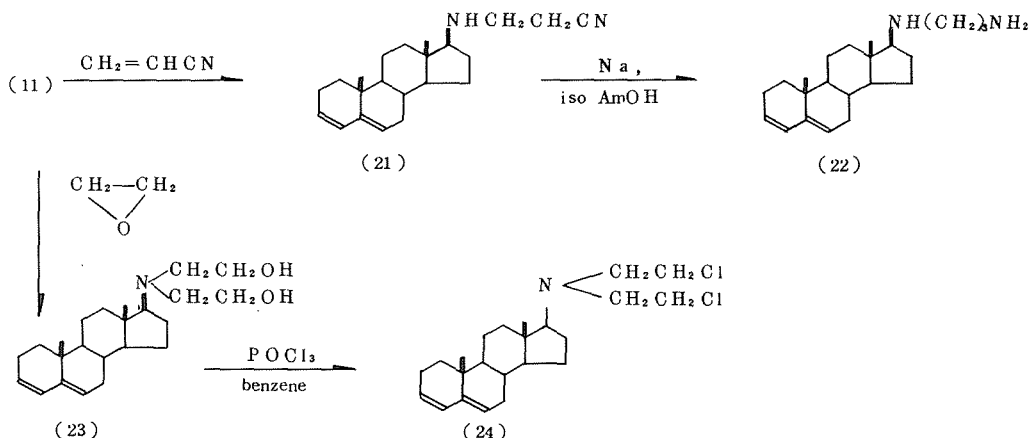
これらの化合物の中で、(11) が最も抗菌性が強く、トリコヒートン アステロイデスに $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 、ペニシリウム チトリナムに $20\mu\text{g}/\text{ml}$ でそれぞれ発育阻止作用を示した。また A B 環の構造と抗菌活性との関係は、A B 環が rigid で平面的な構造の方が活性で、3 位に水酸基や酸素があるときは無効であり、17 位にアミノ基があることが必要である。また界面活性と抗菌活性との関係も調べた結果、至適界面活性が存在することが推察された。

第 5 章 アミノステロイドの抗生物質的活性抗菌スペクトルおよび活性と構造相関

(11) および (16) を中心に、これらの塩酸塩および各種有機酸塩について細菌、抗酸性菌、酵母、カビおよび植物病原菌など 40 数種の微生物についての抗菌作用を調べた。その結果 (11) および (16) はほとんど同様の抗菌スペクトルのパターンを示すことを確認した。即ちグラム陽性菌、抗酸性菌、カビおよび酵母などに $1-10\mu\text{g}/\text{ml}$ 、植物病原菌に $10-20\mu\text{g}/\text{ml}$ 、またグラム陰性菌には $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 程度でそれぞれ発育阻止作用を示した。またこれら 40 数種の菌株を対象とした時の抗菌活性と化学構造との関係は第 4 章の 2 菌株を対象とした時の結果と同様の結果が考察された。

第 6 章 17 β -アミノステロイドの N-置換体の合成とその抗菌作用および抗炎症作用

17 β -アミノステロイドのアミノ基に二三の置換基を導入する反応を検討した。(11) を過量のアクリロニトリルと反応すると、N, N-ビスシアノエチル体はほとんど得られず、高収率で 17 β -(2'-シアノエチルアミノ)-3,5-アンドロスタジエン (21) が得られた。N, N-ビスシアノエチル体が生成しない理由として、反応温度が高くないこと、18-メチル基の立体障害などが考えられるが、この外に (21) が溶媒のメタノールに難溶のため析出し不均一反応系となることなども考えられる。(21) は還元により (22) を与えた。(11) はまたエチレンオキシドと反応して 17 β -N, N-ビス-(2'-ヒドロキシエチル)アミノ-3,5-アンドロスタジエン (23) を与えた。この場合は、中間生成体のヒドロキシエチル体が反応系から析出せず、第二段のヒドロキシエチル化反応は第一段に比較してかなりおそいけれども、N, N-ビスヒドロキシエチル化が高収率で行なわれた。(23) はクロル置換により (24) を与えた。この他に (16) および (18) についても同様の置換基をそれぞれ導入した化合物を合成した。

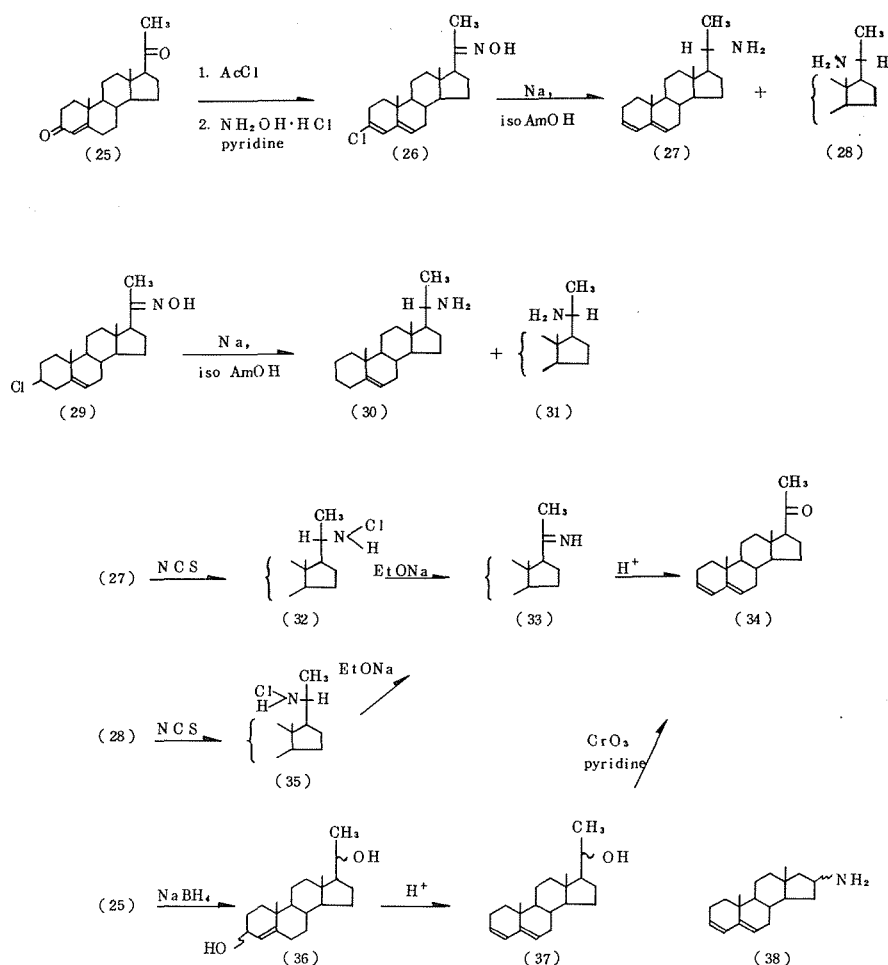


これら化合物の抗菌活性は、 (21) 、 (23) および (24) また (16) の同様の誘導体などはいずれも (11) より活性は強くなかった。さらにアミノプロピル誘導体 (22) および (16) 、また (18) のアミノプロピル誘導体は抗菌活性はほとんど無くなったが、極めて強い抗炎症作用の出現が認められた。

第7章 20 α -および β -アミノ-3, 5-プレグナジエン誘導体および16 ξ -アミノ-3, 5-アンドロスタジエンの合成とその抗菌作用および抗炎症作用

20 α -あるいは20 β -アミノ基またはN置換アミノ基を有する3, 5-ジェン, 5-エンおよび3 β -ヒドロキシ-5-エンステロイドの合成法を確立した。次の図に示す反応工程で20 α -および β -アミノ-3, 5-プレグナジエン (27) 、 (28) を合成した。これらはTLCまたはカラムクロマトグラフィーで分離すると生成比が約2 : 1であり、これらが20位のアミノ基の立体配置のみを異にする異性体であることをUV, アセチル体のIRなどの測定、さらにそれぞれを (34) に誘導することで確認した。つぎにこれらの立体配置の決定は i) 20 α -アミノ-3, 5-プレグナジエンが既知であることから、これとの比較、 ii) NMRにおける18-メチルおよび21-メチルの化学シフト、 iii) アミンとアセチル体の分子旋光度、 iv) 生成比、などの点から決定した。5-エン体 (30) 、 (31) についてもNMR, 分子旋光度, TLCのRf, 生成比などについて3, 5-ジェン体との比較から α 、 β 体をそれぞれ決定した。

これら (27) 、 (28) 、 (30) および (31) などについて第6章と同様にアミノ基に $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$, および $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ などを導入して対応する化合物を合成した。この他に20 β -アミノ-5-プレグネン-3 β -オール, およびこのN-置換体また16-アミノ-3, 5-アンドロスタジエン (38) なども合成した。



これらアミノステロイドの抗菌活性は(27), (28), (30)および(31)などはいずれも(11)に近い活性を示し, (38)も若干弱いが抗菌活性を示した。またN置換アミノステロイドについては種々の影響がみられ, 抗菌活性を強めるもの, 弱めるものがあり, また $\alpha\beta$ の異性体では受ける影響が異なった。またアミノプロピル基はこの場合も強い抗炎症作用を20-アミノステロイドにもたらした。

結 語

3,5-ジエン, 5-エンおよび3 β -ヒドロキシ-5-エン構造を有する種々の新規化合物の合成法を研究し, 併せてこれら化合物の紫外吸収, 赤外吸収, NMRなどを測定し構造の確認または構造との関係などを明らかにした。さらにこれら化合物の中には経口黄体ホルモン作用, 抗菌作用あるいは抗炎症作用などの強い活性を示すものがあることを発見し, さらに化学構造とこれら活性との関係を考察した。

論文審査結果の要旨

永井義郎提出の論文は7章にわけられている。第1, 2章はアスペルギルス・テレウスD₄を用いて固体培養法により, 国産おにどころの根茎からジオスゲニンを高収率で得る新方法, およびその時得られる粗結晶中のジオスゲニンの定量を赤外吸収スペクトルを利用して簡単に行なう新方法を研究確立している。第3章は17 α -アシルオキシ-3,5-プレグナジエン-20-オンを中心に新規化合物7種を合成し, 主として赤外および紫外吸収スペクトルから構造を確認し, また特に合成時の脱水反応について考察している。さらにこれら誘導体が経口黄体ホルモン作用を有することを見い出し, 化学構造-活性相関について新知見を得ている。第4章から第7章までは17 β -アミノ-3,5-アンドロスタジエン, 20 α -および20 β -アミノ-3,5-プレグナジエンを中心に新規化合物50種の合成法を確立し, 化学的方法, また赤外, 紫外吸収スペクトル, 分子旋光度および核磁気共鳴などの機器分析を用いて化学構造を立証し, とくに20-アミノプレグナン系ステロイドにおける立体異性体について, アミノ基の立体配置と核磁気共鳴スペクトルにおける18, 19および21メチルの化学シフトとの関係を検討し, N置換アミノ基の場合も1級アミンの場合と同様の規則性があることを確認している。この事実は一般の20-アミノステロイドの20-アミノ基の立体配置の決定に役立つものである。またこれらアミノステロイドがA B環の構造とD環の置換基の種類により, かなり強い抗菌性を示すこと, またかなり強い抗炎症作用を示すことを明らかにしている。この場合の構造-活性相関についても考察し, 多くの新知見を得ている。第3章から第7章までにおいて従来知られていない種々の興味ある活性を有する, 新しい3,5-ジエンステロイド類の分野を明らかにしている。

上記のように3,5-ジエンステロイド類の合成法を確立し, 約60種の新規化合物を合成し, 機器分析を充分利用して研究を行ない, さらにまた化学構造と生物活性との関係につき種々の新知見を得たことはかなり独創的であり, 所期の目的を果たした。よって永井義郎提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。